

UNIVERSITE DE GENEVE
Département de médecine
Division d'immunologie et d'allergie

FACULTE DE MEDECINE
Professeur A.F. MULLER
Professeur A. CRUCHAUD

IMMUNOGLOBULINES DE SURFACE LYMPHOCYTAIRES
ETUDIEES CHEZ DES SUJETS NORMAUX
ET CHEZ DES PATIENTS
PORTEURS DE TROUBLES IMMUNOLOGIQUES

THESE

présentée à la Faculté de médecine de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de docteur en médecine

par

Isabelle Françoise NICOD

du

PETIT-SACONNEX, GENEVE et VUILLENS (Vaud)

Thèse N° 3386

GENEVE
Editions Médecine et Hygiène
1974

IMMUNOGLOBULINES DE SURFACE LYMPHOCYTAIRES
ETUDIEES CHEZ DES SUJETS NORMAUX
ET CHEZ DES PATIENTS
PORTEURS DE TROUBLES IMMUNOLOGIQUES

THESE

présentée à la Faculté de médecine de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de docteur en médecine

par

Isabelle Françoise NICOD

du

PETIT-SACONNEX, GENEVE et VUILLENS (Vaud)

Thèse N° 3386

GENEVE
Editions Médecine et Hygiène
1974

La Faculté de médecine, sur le préavis du professeur André Cruchaud, autorise l'impression de la présente thèse, sans prétendre par là émettre d'opinion sur les propositions qui y sont énoncées.

Genève, le 30 janvier 1974

Le doyen :
William Geisendorf

Thèse No 3386



Que le professeur A. Cruchaud, qui m'a aidé de ses précieux conseils dans l'exécution de ce travail, reçoive ici l'expression de ma vive reconnaissance.

A Madame Monika Berney, Madame C.L. de Marignac et Monsieur Pierre Meylan vont aussi mes remerciements chaleureux pour leur aimable et utile collaboration.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545929_0013

INTRODUCTION

Bases cellulaires de la réponse immune

Systèmes humoral et cellulaire.

Lorsqu'un antigène pénètre dans l'organisme, il y induit habituellement une réponse immune; selon la nature de l'antigène, cette réponse peut être de type humoral et/ou cellulaire.

Deux systèmes immunologiques différents participent, en effet, aux événements complexes groupés sous le nom de réponse immune :

- le système humoral qui conduit à la synthèse d'anticorps circulants et dont les manifestations cliniques classiques sont le choc anaphylactique et la maladie sérique;
- le système cellulaire qui aboutit aux réactions d'hypersensibilité retardée telles que le rejet de greffes allogéniques et la réaction tuberculinique.

Cette division de l'appareil immunologique en deux systèmes s'est imposée à la suite des expériences de Glick et coll. (1956), Warner et coll. (1962), Cooper et coll. (1965) qui ont montré qu'en pratiquant, chez l'oiseau, l'ablation d'un organe situé à l'extrémité du tube digestif et appelé bourse de Fabricius, on inhibait la formation d'anticorps mais non les réactions d'hypersensibilité retardée; au contraire, en enlevant le thymus d'animaux nouveau-nés, on empêchait les réactions d'hypersensibilité retardée mais non la synthèse d'anticorps, tout au moins contre certains antigènes.

Organes lymphoïdes centraux et périphériques.

La bourse de Fabricius et le thymus reçoivent leur contingent cellulaire d'un organe lymphoïde commun : la moelle osseuse qui contient les cellules-souches. Certaines de ces cellules migrent dans la bourse de Fabricius, chez l'oiseau, ou dans un équivalent mal connu chez les mammifères (tissu lymphoïde du tractus digestif ?) où elles se différencient en lymphocytes B, médiateurs de l'immunité humorale, puis vont coloniser les follicules lymphoïdes et la medulla des ganglions, ainsi que la pulpe rouge et la périphérie des corpuscules de Malpighi de la rate.

D'autres cellules-souches migrent dans le thymus; on les appelle alors des thymocytes. Les thymocytes du cortex se divisent très rapidement et semblent mourir sur place; mais les thymocytes de la medulla se transforment en lymphocytes T, acteurs de l'immunité cellulaire et vont constituer, par l'intermédiaire du

canal thoracique, la majorité des lymphocytes circulants, les zones paracorticales des ganglions et, dans la rate, les zones périartériolaires des corpuscules de Malpighi. C'est surtout pendant la période de maturation immunologique pré- et périnatale que le thymus est important; son rôle diminue avec l'âge, comme en témoigne d'ailleurs son involution progressive.

La moelle osseuse, la bourse de Fabricius (ou son équivalent) et le thymus constituent les organes lymphoïdes centraux, dans lesquels se fait la différenciation des cellules lymphoïdes, indépendamment de toute stimulation antigénique. Les ganglions et la rate forment les organes lymphoïdes périphériques; ce sont les lieux où s'exerce l'action des cellules lymphoïdes en réponse à une stimulation antigénique précise.

Fig. 1.

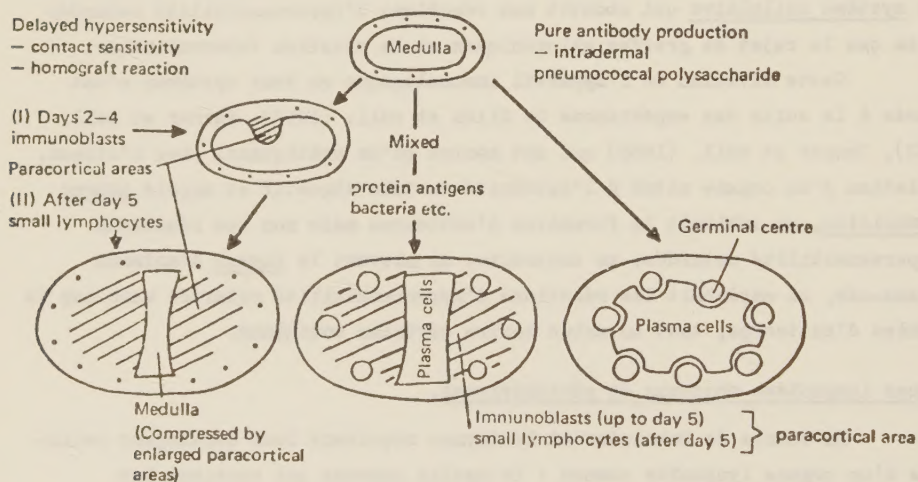
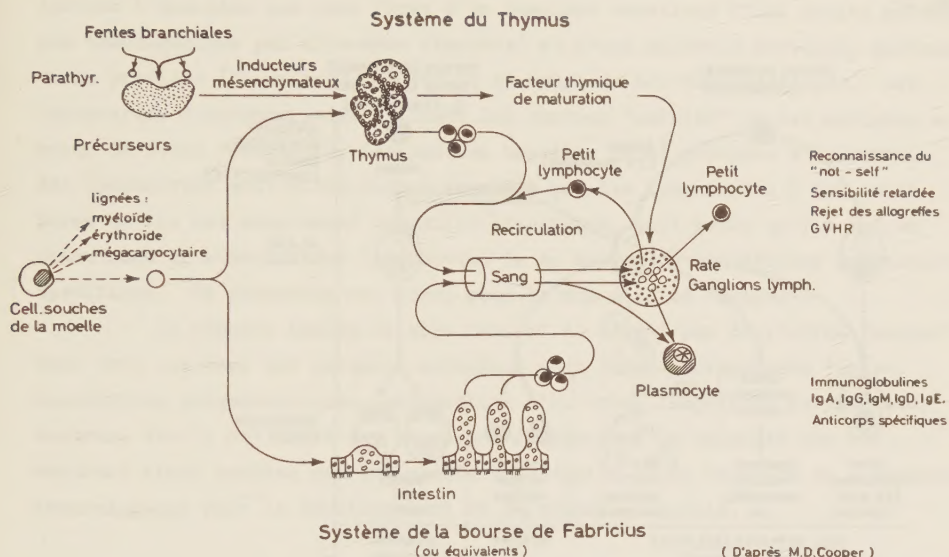


Schéma de la réponse primaire d'un ganglion lymphatique à une stimulation antigénique. (D'après J. Turk).

Fig. 2.



Système lymphoïde central. (D'après M.D. Cooper).

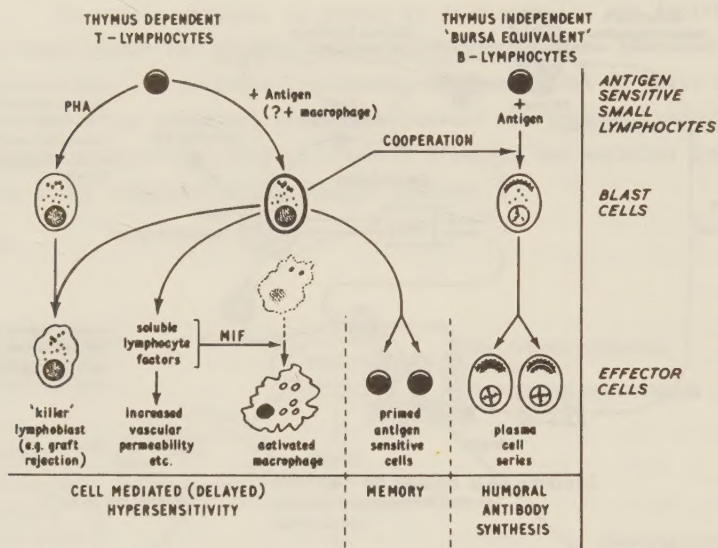
Récepteurs à la surface des lymphocytes.

Les lymphocytes B et T sont parmi les premières cellules à intervenir dans la réponse immunitaire : ils ont pour mission d'identifier l'antigène; on les appelle, en anglais, "antigen-reactive cells" ou "antigen-sensitive cells". L'identification de l'antigène se fait grâce à des récepteurs situés à la surface des lymphocytes.

La fixation de l'antigène sur ces récepteurs entraîne la prolifération des lymphocytes et, quand il s'agit de lymphocytes B, leur différenciation en plasmocytes sécrétant d'anticorps humoraux et, peut-être, en cellules à mémoire; elle provoque la transformation des lymphocytes T en cellules cytotoxiques et sécrétrices de facteurs tels que le facteur inhibant la migration des macrophages

(MIF), le facteur mitogénique (MF), le facteur lymphocytotoxique (LTF), le facteur chimiotactique (CF), et en cellules à mémoire.

Fig. 3.



Rôle des lymphocytes T et B dans la réponse immunitaire. (Tiré de I.M. Roitt et coll., Lancet 2, 1969, 367).

Il est actuellement reconnu que les récepteurs de surface des lymphocytes B sont des immunoglobulines sécrétées par les cellules qui les portent; elles ne proviennent donc pas du sérum, bien qu'elles aient la même structure que les immunoglobulines sériques. La spécificité anticorps de ces récepteurs est déterminée par le génome de chaque lymphocyte. Il semble qu'une cellule normale ne possède qu'un seul type d'immunoglobuline; il s'agit de molécules complètes, composées de chaînes légères et de chaînes lourdes.

On s'accorde à reconnaître maintenant que les récepteurs des lymphocytes T sont peut-être aussi des immunoglobulines dont la concentration à la surface cellulaire serait bien moindre que celle des lymphocytes B, mais tous les avis ne concordent pas à ce sujet.

Effet "helper".

La frontière entre les systèmes humoral et cellulaire est loin d'être absolue et une collaboration peut s'établir entre eux. C'est le cas notamment lorsque l'antigène est sous forme d'un complexe constitué d'une petite molécule non immunogénique par elle-même (haptène) et d'une molécule protéique porteuse de la première ("carrier"), conférant au complexe son immunogénicité. Les lymphocytes T reconnaissent et lient les parties "carrier" de cet antigène au moyen de leurs récepteurs; les parties haptènes ainsi groupées à la surface des lymphocytes sont alors reconnaissables par les lymphocytes B qui, soit parce qu'ils ont simplement identifié l'antigène, soit parce qu'ils ont en outre reçu un stimulus des lymphocytes T, se mettent à synthétiser un anticorps spécifique. Ce phénomène est connu sous le nom d'effet "helper".

La réponse immune de type humoral ne dépend pas de l'effet "helper" dans tous les cas, car certains antigènes sont thymo-indépendants (poly-saccharides pneumococciques, endotoxines d'E. Coli, flagelline polymérisée, dextran, etc.); cet effet est cependant requis dans la majorité des cas montrant ainsi combien est importante l'intégrité de la totalité de l'appareil immunologique pour le développement de la réponse humorale.

HISTORIQUE

En 1900 déjà, Ehrlich suggère la présence, à la surface des cellules, d'unités de reconnaissance qui doivent jouer un rôle dans leurs fonctions.

A la suite de leurs expériences de transformation blastique des lymphocytes de lapin par un sérum anti-allotype, Sell et Gell (1965) supposent que les unités de reconnaissance des lymphocytes sont des anticorps fixés à la surface cellulaire. Cette idée est reprise par Mitchison (1967), lors de l'étude de l'inhibition par un sérum anti-immunoglobulines de souris, de la réponse humorale de lymphocytes injectés à des souris irradiées. C'est en 1970 que Raff et coll. démontrent pour la première fois de façon directe, c'est-à-dire par immunofluorescence directe et autoradiographie, la présence d'immunoglobulines jouant probablement le rôle d'anticorps récepteurs sur des lymphocytes de souris. Par des méthodes semblables, Pernis et coll. (1970) démontrent les mêmes immunoglobulines sur les lymphocytes de lapin, Grey et coll. (1971) sur

les lymphocytes humains.

Un grand nombre d'auteurs ont mis en évidence des immunoglobulines à la surface des lymphocytes, chez l'animal et chez l'homme, par des méthodes indirectes :

- Wigzell (1970), par l'élimination des lymphocytes B sur des colonnes de perles microscopiques recouvertes d'antigène;
- Bert et coll. (1969), par l'électrophorèse de lymphocytes traités par un antisérum;
- Coombs et coll. (1969), par une méthode de rosettes;
- Warner et coll. (1970), par l'inhibition au moyen d'un antisérum, de la fixation d'antigène;
- Greaves (1970), par l'adhérence opsonique;
- Hämmerling et coll. (1971), par le marquage des lymphocytes à l'aide d'anticorps hybrides anti-immunoglobulines et anti-virus;
- Lesley et Dutton (1970), par l'inhibition au moyen d'antisérums des réactions lymphocytaires contre des hématies de mouton;
- Paraskevas et coll. (1971) par la "cyto-immuno-adhérence inversée".

D'autres ont utilisé des méthodes directes telles que l'immuno-fluorescence ou l'autoradiographie (Cooper et coll., 1971; Papamichael et coll., 1971; Siegal et coll., 1971; Fröland et Natvig, 1972 a; Wilson et Nossal, 1972; Aisenberg et Bloch, 1972; Preud'homme et Seligmann, 1972 a) ou, parfois encore, la microscopie électronique (Perkins et coll., 1972; Zucker-Franklin et Berney, 1972).

Il existe actuellement des divergences quant aux résultats obtenus par fluorescence : certains auteurs trouvent une majorité de lymphocytes porteurs d'IgM variant en moyenne entre 9 et 13 %, avec 3 à 8 % de lymphocytes porteurs d'IgG et 2 à 7 % de lymphocytes porteurs d'IgA (Siegal et coll., 1971; Preud'homme et Seligmann, 1972 a; Aisenberg et Bloch, 1972; Fröland et Natvig, 1972 a). D'autres trouvent davantage de lymphocytes porteurs d'IgG, soit 14 à 16 %, avec 7 à 11 % de porteurs d'IgM et 5 à 11 % d'IgA (Cooper et coll., 1971; Grey et coll., 1971; Papamichael et coll., 1971; Williams et coll., 1973; Nicod et coll., 1973). D'autres enfin trouvent autant d'IgG que d'IgM et moins d'IgA (Piessens et coll., 1973).

Une question débattue aujourd'hui est l'existence d'immunoglobulines à la surface des lymphocytes T. Plusieurs auteurs ont pensé que ces immuno-

globulines constituent une propriété exclusive des lymphocytes B (Raff et coll., 1970; Pernis et coll., 1970; Grey et coll., 1971, Unanue et coll., 1971; Kincade et coll., 1971; Basten et coll., 1972) tandis que d'autres ont démontré qu'on pouvait inhiber des réactions d'hypersensibilité retardée telles que la formation de rosettes d'hématies de mouton, la réaction greffe contre hôte, l'effet "helper", en traitant des lymphocytes au moyen d'antisérums anti-chaînes légères, anti-immunoglobulines polyvalents ou anti- μ . En outre, la majorité des lymphocytes ganglionnaires marqués par des antisérums anti-immunoglobulines portent l'antigène thêta, caractéristique des lymphocytes T (Hämmerling et coll., 1971). Plus de 20 % des lymphocytes du canal thoracique, dont 90 % sont des lymphocytes T, ont des immunoglobulines de surface (Bankhurst et coll., 1971; Marchalonis et coll., 1973). Enfin, Goldschneider et Cogen (1973) ont observé que les lymphocytes T de rats activés par des antigènes sont porteurs d'immunoglobulines décelables par immunofluorescence. Il paraît donc vraisemblable que les lymphocytes T portent aussi des immunoglobulines, mais que celles-ci sont ou bien cachées, du moins en partie, dans la membrane cellulaire, ou bien moins nombreuses que sur les lymphocytes B, ou les deux.

Une notion nouvelle a été acquise récemment au sujet des immunoglobulines de surface lymphocytaire, grâce à Loor et coll. (1972) : c'est leur capacité de se déplacer dans le plan de la membrane cellulaire. Ainsi, quand on fait réagir des lymphocytes avec un antisérum fluorescent divalent ($F(ab')_2$) on provoque le rapprochement de deux molécules d'immunoglobulines et comme un micro-précipité qui apparaît, au microscope, sous la forme de petites granulations ou "spots". Par contre, l'utilisation d'un anticorps monovalent (Fab) résulte en un aspect de fluorescence uniforme qui peut apparaître comme un anneau quand on focalise dans le plan de la cellule; cet aspect uniforme correspond vraisemblablement à la répartition habituelle des immunoglobulines qui couvrent la surface des lymphocytes de façon diffuse.

Ce phénomène dépend du métabolisme de la cellule et les agents qui ont une répercussion sur celui-ci influencent le mouvement des immunoglobulines et, par conséquent, l'aspect de la fluorescence; température, tonicité du milieu, substances chimiques. Loor et coll. ont aussi montré qu'au bout d'un certain temps, les microprécipités disparaissent de la surface cellulaire et, selon Raff et De Petris (1973) et Wilson et coll. (1972), il semble que cette disparition des microprécipités soit due à leur pinocytose par la cellule qui les

a portés. Ce processus a lieu certainement aussi in vivo en présence de certains antigènes. Cet aspect dynamique des immunoglobulines de surface lymphocytaire et des autres antigènes de membrane a été récemment étudié et confirmé par Unanue et coll. (1972).

Les immunoglobulines, disparues après formation de microprécipités ou encore sous l'effet de la trypsine, substance qui a pour effet de les décoller de la surface cellulaire, sont remplacées après 6 à 8 h. par des molécules synthétisées de novo par la cellule (Preud'homme et Seligmann, 1972b).

Il faut enfin signaler un domaine particulièrement intéressant de l'étude des immunoglobulines de surface, celui des syndromes lymphoprolifératifs. Les résultats obtenus dans l'investigation des leucémies lymphoïdes chroniques, en particulier, montrent une très forte prédominance d'un type d'immunoglobuline à la surface des lymphocytes des patients leucémiques, avec une quasi absence des autres immunoglobulines; il s'agit, dans la plupart des cas, d'IgM de type K, beaucoup plus rarement de chaînes μ , κ ou λ isolées (Grey et coll., 1971; Cooper et Lawton, 1972; Pernis et coll., 1971; Preud'homme et Seligmann, 1971). Cette prépondérance d'un seul type d'immunoglobuline confirme l'origine monoclonale des lymphocytes leucémiques. Le fait que l'on trouve surtout des IgM à la surface des cellules leucémiques s'explique par leur immaturité. Il faut ajouter que, plus récemment, plusieurs auteurs ont signalé la présence d'immunoglobulines différentes sur la surface des lymphocytes dans les syndromes lymphoprolifératifs (Piessens et coll., 1973) ainsi que dans les maladies autoimmunes (Williams et coll., 1973; van Boxel et coll., 1973). Les cas étudiés jusqu'ici montrent que les lymphocytes tumoraux ont les caractéristiques des lymphocytes B, mais il semble probable qu'il existe aussi des cas plus rares de leucémies à lymphocytes T.

BUT DU TRAVAIL

Le but de notre travail a été de déterminer le pourcentage de lymphocytes porteurs d'immunoglobulines de surface chez des sujets normaux et chez des patients atteints de déficits immunologiques.

Cette recherche nous a paru intéressante à plusieurs égards :

1/ La détection des immunoglobulines de surface lymphocytaires devrait aider à la compréhension des phénomènes pathogéniques aboutissant aux déficits

immunologiques.

2/ C'est un sujet très étudié depuis quelques années, mais dont les résultats obtenus par les auteurs qui s'y sont attachés ne sont pas concordants.

3/ La méthode de fluorescence indirecte que nous avons utilisée n'a été que peu appliquée à ce type de recherche; nous l'avons choisie pour sa sensibilité plus grande que celle de la méthode directe.

MATERIEL ET METHODES

Sujets étudiés.

Nous avons étudié 33 sujets :

- 13 cas normaux (donneurs de sang du Centre de Transfusion de Genève);
- 6 cas de déficits humoraux;
- 8 cas de sarcoïdose, maladie entraînant généralement un déficit de l'immunité cellulaire, sans atteinte de l'immunité humorale;
- 5 patients ayant subi une thymectomie environ 2 ans avant la présente investigation;
- 1 cas d'aplasie médullaire au chloramphénicol.

Les cas pathologiques étaient des patients des Cliniques Médicale et Médicale Thérapeutique, de la Policlinique de Médecine, de la Clinique de Pédiatrie de l'Hôpital Cantonal de Genève, ou des malades de l'extérieur.

Récolte des lymphocytes.

Les lymphocytes ont été prélevés à partir de sang veineux hépariné et séparés des érythrocytes, polynucléaires et monocytes par centrifugation sur Ficoll-Ronpacon, selon la méthode de Böyum (1968) : dans des tubes de verre à fond rond, on dépose délicatement une partie de sang veineux hépariné sur deux parties du mélange Ficoll-Ronpacon (dilué pour obtenir une densité de 1.077); après centrifugation à 400 g, on observe la formation de 4 couches séparées, soit de bas en haut : sang appauvri en lymphocytes, Ficoll-Ronpacon, lymphocytes seuls, plasma. On prélève alors au moyen d'une pipette Pasteur les lymphocytes qui sont lavés 3 fois en milieu d'Eagle additionné de sérum de veau foetal (FCS) à 1 %.

Sérums de lapin anti-immunoglobulines humaines.

Ils ont été obtenus par immunisation répétée de lapins au moyen d'IgG, d'IgA ou d'IgM, ainsi que de protéines de Bence-Jones χ et λ , purifiées, combinées à de l'adjuvant complet de Freund. Ont été retenus uniquement les antisérums qui, testés par immunoélectrophorèse, donnaient une forte ligne de précipitation avec leur antigène respectif. On a ensuite absorbé l'anti-IgA et l'anti-IgM avec de l'IgG pure obtenue par chromatographie sur colonne de DEAE-cellulose (tampon phosphate 0,005 M, pH 8,0). Après précipitation des gammaglobulines par le sulfate d'ammonium et dialyse en solution physiologique tamponnée à pH 7,2 (PBS), tous les antisérums ont été passés sur colonne de DEAE-cellulose avec des tampons phosphate pH 7,4 (respectivement 0,02 puis 0,05 M) pour isoler uniquement les fractions IgG. Les fractions IgG détectées à l'immunoélectrophorèse avec du sérum de chèvre anti-protéines de lapin ont alors été amenées à une concentration de 6-8 mg de protéines par ml.

Pour que les antisérums réagissent spécifiquement avec les chaînes lourdes χ , δ , ou μ , on a absorbé les anti-IgG, -IgA ou -IgM sur chaînes légères χ et λ . On a absorbé les antisérums dirigés contre les chaînes légères χ ou λ respectivement sur des chaînes λ ou κ pour leur enlever toute activité croisée possible, puis sur fragment Fc d'IgG humaine pour obtenir des réactifs dirigés uniquement contre les chaînes légères. Il s'est encore révélé nécessaire d'absorber tous ces antisérums monospécifiques sur lymphocytes humains pour enlever les anticorps, présents naturellement chez le lapin, qui réagissent avec les antigènes de surface HL-A. Dans ce but, chaque antisérum a été incubé avec 40×10^6 lymphocytes par ml, à la température du laboratoire pendant 30 min., puis a été centrifugé à 1500 g pendant 10 min. pour éliminer les lymphocytes.

Les complexes antigène-anticorps formés au cours de ces différentes manipulations et qui risquaient d'adhérer à la surface des lymphocytes (Uhr, 1965), ont été éliminés par ultracentrifugation à 114.000 g pendant une heure.

Les antisérums ainsi obtenus ont été additionnés d'un agent conservateur (azide de sodium) et conservés à -20° .

Sérum de chèvre fluorescent anti-fragment Fc de lapin.

Cet antisérum (don du Dr Torrigiani, Unité d'Immunologie de l'OMS, Genève) dirigé contre le fragment Fc de l'IgG de lapin, a été précipité au sulfate d'ammonium, dialysé en PBS et rendu fluorescent par conjugaison à

l'isothiocyanate de fluorescéine, selon la méthode de Wood, Thompson et Goldstein (1965). Les fractions IgG du sérum ont été isolées par chromatographie sur DEAE-cellulose et l'on a contrôlé leur pureté par immunoelectrophorèse. L'activité de ces fractions contre les IgG de lapin a été testée de la façon suivante : des coupes de foie de rat ont été incubées avec un sérum humain contenant un titre élevé d'anticorps anti-nucléaires; la fixation de ces anticorps sur les noyaux a été mise en évidence par un sérum de lapin anti-immunoglobulines humaines; les IgG du sérum de lapin ont été révélées, à leur tour, au moyen des différentes fractions du conjugué de chèvre anti-Fc de lapin. Ont été choisies les fractions qui donnaient une fluorescence intense des noyaux, avec un "back-ground" minimum. Ces fractions ont été absorbées sur lymphocytes humains, ultracentrifugées et conservées à -20° en présence d'azide de sodium.

Il faut noter que le conjugué de chèvre fluorescent incubé seul avec les lymphocytes humains n'a pas montré de fluorescence de surface.

Détermination de la concentration optimale et de la spécificité des antisérums de lapin.

Pour s'assurer que les antisérums de lapin anti-chaînes lourdes et légères humaines détectaient bien toutes les chaînes correspondantes présentes à la surface des lymphocytes, il a fallu établir des courbes de dilution et de concentration. 0,02 ml de suspension lymphocytaire ont été incubés avec 0,04 ml d'antisérum non dilué, ou dilué à 1/2, 1/3, 1/4, puis avec le sérum fluorescent de chèvre anti-fragment Fc de lapin (voir technique détaillée plus loin). Les lymphocytes fluorescents ont été comptés et l'on a rapporté sur un graphique leur pourcentage en fonction des différentes dilutions d'antisérums. Dans la plupart des cas, on a observé un premier plateau, puis une baisse du pourcentage des cellules fluorescentes; on a choisi d'utiliser, par la suite, la plus forte dilution correspondant encore au plateau. Dans les cas où il n'y avait pas de plateau avec les antisérums dilués, on a incubé 0,02 ml de suspension lymphocytaire avec respectivement 0,04, 0,08, 0,16, 0,32 ml d'antisérum non dilué, et le plus petit volume d'antisérum donnant un plateau a été utilisé par la suite.

La spécificité de chaque antisérum, déjà évaluée par immunoelectrophorèse, a été testée après absorption avec l'antigène correspondant. Cette

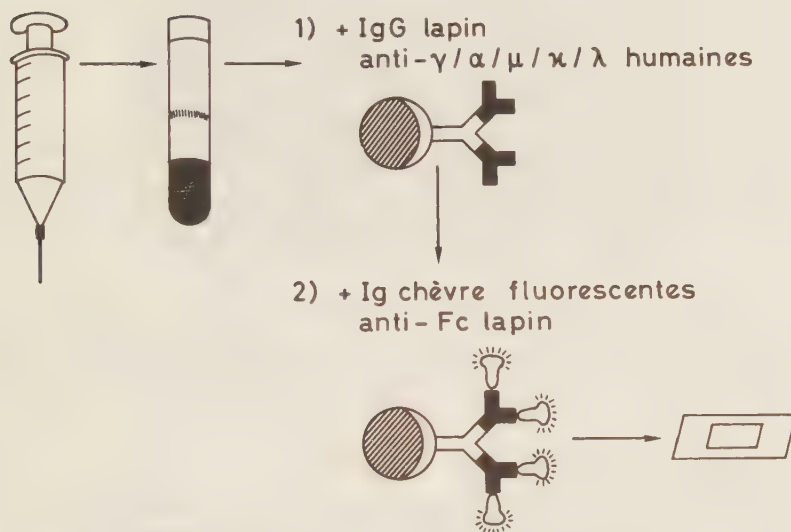
absorption a résulté en la disparition complète de toute fluorescence de membrane.

Détection des immunoglobulines de surface.

Des échantillons (0,02 ml) de lymphocytes suspendus en milieu d'Eagle additionné de 1 % de FCS et contenant un nombre fixe de cellules ($0,5 \times 10^6$) ont été incubés à 4° pendant 30 min. avec l'un ou l'autre des antisérums de lapin (0,04 ml de la dilution appropriée ou d'antisérum non dilué selon la courbe de dilution ou de concentration obtenue) anti- γ , α , μ , κ ou λ . Un échantillon incubé avec des IgG de lapin normal a servi de contrôle. Les cellules, agitées de temps à autre, puis lavées 3 x en Eagle-FCS ont été re-suspendues dans 0,02 ml de milieu pour être incubées avec l'antisérum de chèvre fluorescent (0,04 ml), à 4° pendant 30 min. Après 3 nouveaux lavages en Eagle-FCS, les lymphocytes ont été centrifugés en PBS additionné de 7 % de BSA, puis suspendus dans ce dernier milieu. Une goutte de suspension a été placée sur une lame recouverte d'une lamelle dont les bords ont été scellés à la paraffine.

Les préparations ont été observées au microscope, en lumière blanche d'abord, pour compter les lymphocytes présents dans un champ, puis en lumière ultra-violette afin de déterminer le nombre de lymphocytes fluorescents dans le même champ (microscope Zeiss avec condensateur à fond noir; lampe Osram à vapeur de mercure; filtres de combinaison 2,5 mm BG 38,4 mm BG 3 et 4 mm BG 12; filtres de barrage -65/41). Les comptes ont été faits sur un minimum de 300 cellules et, dans la plupart des cas, par deux examinateurs différents.

On a soustrait, pour chaque échantillon, le nombre des lymphocytes donnant une fluorescence après incubation avec les IgG de lapin normal; ce "back-ground" a varié, dans la plupart des expériences, entre 0 et 3 % des lymphocytes.

Fig. 4.Méthode de fluorescence indirecteStimulation lymphocytaire.

Les lymphocytes, récoltés selon la méthode de Böyum (1968) décrite plus haut, ont été cultivés selon une technique basée sur celles de Hirschhorn (1964) et Girard (1967). 10^6 cellules ont été mises en suspension dans 2 ml de milieu TC 199 dans des tubes à cultures additionnés de sérum humain AB à 20 %; elles ont été incubées à 37° dans une atmosphère d'air avec 5 % de CO_2 .

Les agents suivants ont été choisis pour la stimulation : phyto-hémagglutinine (PHA), 0,05 ml/tube, tuberculine purifiée (PPD), 10 UI/tube, streptokinase-streptodornase, 2000 UI/tube, extrait de *Candida albicans*, 0,1 ml d'une solution à 5 %/tube. L'incorporation de thymidine- H^3 dans ces cultures

permet de déterminer l'intensité de la stimulation par ces substances. 0,1 μ Ci de thymidine- H^3 ont été ajoutés à chaque tube, 3 jours après le début de l'incubation pour la PHA, et après 5 jours pour les antigènes. Seize heures plus tard, les cultures ont été arrêtées, le DNA a été précipité avec de l'acide trichloracétique froid à 5 % et le précipité a été recueilli dans un filtre millipore (0,45 μ). Les filtres, séchés, ont été plongés dans un liquide de scintillation et leur activité a été comptée dans un compteur à scintillation liquide (Beckman, modèle LS 250).

L'immunité cellulaire a été évaluée de la façon suivante :

- Immunité cellulaire normale : PHA $\geq$ 25.000 cpm et 1 des 3 Ag au moins ayant 2 fois la valeur du contrôle
- Immunité cellulaire diminuée : ou $\left\{ \begin{array}{l} \text{PHA} < 25.000 \text{ cpm mais 1 des 3 Ag au moins ayant} \\ \text{2 fois la valeur du contrôle} \\ \text{PHA} \geq 25.000 \text{ cpm mais pas de réponse avec} \\ \text{les 3 Ag} \end{array} \right.$
- Immunité cellulaire très diminuée : PHA $<$ 25.000 cpm et pas de réponse avec les 3 Ag

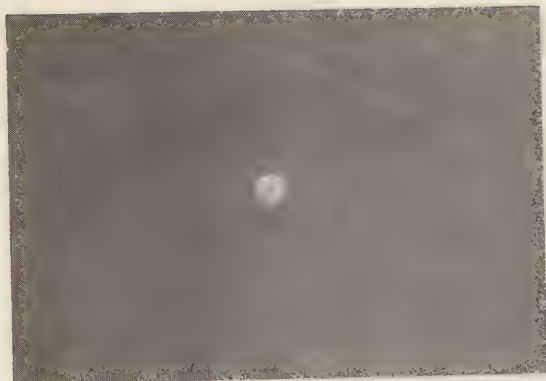
Détermination du taux des immunoglobulines sériques.

Des dosages d'immunoglobulines sériques ont été effectués dans le sérum de tous les sujets testés par la méthode de diffusion radiale de Mancini et coll. (1965), au moyen de plaques Tri-Partigen et LC-Partigen (Behring) pour les IgG et les IgA et d'immunoplates (Hyland) pour les IgM.

RESULTATS

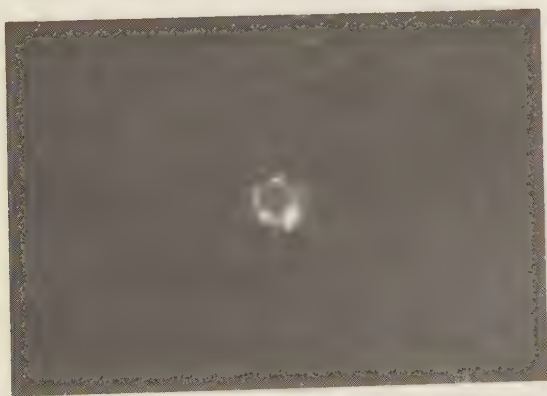
Dans les conditions d'observation choisies (préparations conservées au froid et amenées à la température de la chambre juste avant examen), les lymphocytes montrent une fluorescence membranaire caractéristique, en taches multiples ou, moins souvent, en anneau uniforme; l'aspect en "cape" est rarement observé.

Fig. 5.

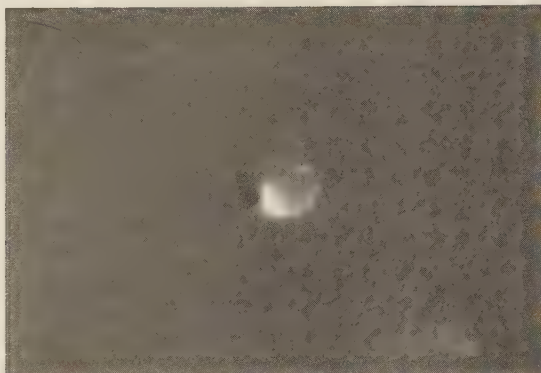


Lymphocyte porteur d'IgG-globuline. Image intermédiaire entre l'aspect homogène en anneau et l'aspect granulaire. Quelques lymphocytes négatifs à peine visibles dans le voisinage. (Gr. 780 x).

Fig. 6.



Lymphocyte porteur d'IgM-globuline. Aspect grossièrement granulaire. (Gr. 1280 x).

Fig. 7.

Lymphocyte porteur d'IgM-globuline. Phénomène de "capping" avec persistance de quelques images granulaires. (Gr. 1280 x).

A. Sujets normaux

Nous trouvons dans le sang périphérique une moyenne de lymphocytes porteurs de chaînes lourdes égale à 30,7 % (limites 23-45 %), parmi lesquels 15,3 % (12-19 %) ont des chaînes γ , 7,2 % (4-14 %) des chaînes α , 8,2 % (6-12 %) des chaînes μ . La moyenne des lymphocytes porteurs de chaînes légères s'élève à 32,8 % (17-41 %), dont 20,4 % (8-29 %) de κ et 12,4 % (8-19 %) de λ .

On constate une assez grande variabilité individuelle quant au nombre de lymphocytes positifs pour l'une ou l'autre des immunoglobulines.

Neuf sujets sur 13 ont plus de lymphocytes porteurs de chaînes légères que de chaînes lourdes et la moyenne des différences, calculée pour chaque cas, entre la somme des chaînes légères et celle des chaînes lourdes, est de 6,6 % (2-9 %). Quatre sujets ont, au contraire, davantage de lymphocytes positifs pour les chaînes lourdes que pour les chaînes légères. C'est pour l'IgG seulement qu'il existe une corrélation entre le pourcentage des lymphocytes porteurs d'une immunoglobuline et son taux sérique; en effet, tous les cas présentent une majorité de lymphocytes porteurs de chaînes γ et une prédominance d'IgG sérique.

Dans ce travail, l'immunité cellulaire n'a pas été testée pour les cas normaux. Mais une étude faite auparavant sur 82 sujets sains montre les résultats suivants : 100 % présentent une augmentation de l'incorporation de thymidine- H^3 après stimulation à la PHA, 62 % réagissent à la varidase (streptokinase-streptodornase), 45 % à *Candida albicans* et 43 % à la tuberculine purifiée. Parmi les 8 sujets (9,7 %) ne répondant à aucun des trois derniers Ag, 6 sont âgés de moins de 20 ans et n'ont vraisemblablement pas encore été en contact avec ces antigènes. 25,6 % des sujets ont un test positif; 41,5 % en ont deux et 23,2 % en ont trois.

B. Déficits humoraux

Description des cas.

Cas No 1 (W.D., 1948) : Patient ayant présenté des infections ORL, respiratoires, cutanées et urinaires à répétition et chez lequel le diagnostic d'agammaglobulinémie liée au sexe, type Bruton, a été posé alors qu'il avait 5 ans. Il a un frère cadet qui souffre de la même maladie.

Le taux des immunoglobulines sériques est fortement diminué chez lui, mais son immunité cellulaire est normale d'après les critères précédemment cités. Ce patient ne recevait pas d'immunoglobulines quand il a été testé.

Cas No 2 (K.M., 1968) : Il s'agit d'un enfant chez lequel le diagnostic d'agammaglobulinémie liée au sexe, type Bruton, a été posé à l'âge de 2 ans $\frac{1}{2}$ lors d'une sepsis à pyocyanique. Il avait fait auparavant de multiples infections des voies respiratoires et des diarrhées fréquentes. Le frère aîné du patient était atteint de la même maladie; il est décédé à 3 ans d'une sepsis à pyocyanique, après avoir souffert d'infections pyogènes récidivantes. Les immunoglobulines de notre sujet sont fortement diminuées; l'immunité cellulaire paraît diminuée, mais il faut tenir compte du bas âge du patient qui n'a certainement pas encore été en contact avec les antigènes utilisés dans l'évaluation de la sensibilité cellulaire. Ce malade recevait des immunoglobulines intra-veineuses lorsqu'il a été testé.

Cas No 3 (R.R., 1917) : Ce malade a souffert de diarrhées à répétition dès son enfance. On a trouvé une fois des lamblas dans ses selles. Il a ensuite fait des infections respiratoires et cutanées récidivantes, ainsi qu'une ostéomyélite mandibulaire. C'est lors d'épisodes répétés de pneumonies qu'on a

découvert qu'il était atteint d'une agammaglobulinémie; le patient a alors été mis sous traitement de gammaglobulines intra-musculaires. Il s'agit donc d'une agammaglobulinémie primaire à manifestation tardive que la découverte d'une hyperplasie lymphoïde nodulaire de l'intestin grêle permet de classer parmi le type de cas décrits par Hermans et coll., 1966. Le taux des immunoglobulines sériques est fortement diminué chez lui; son immunité cellulaire est aussi altérée.

Cas No 4 (L.J.F., 1922) : On relève les épisodes infectieux suivants dans l'anamnèse de ce malade : à 11 ans, phlegmon post-traumatique du poignet; à 14 ans, fièvre typhoïde; à 20 ans, furonculose généralisée ayant duré près d'une année. Il faut également remarquer de nombreuses infections des voies aériennes supérieures : otites, sinusites, ainsi que trachéobronchites à répétition et broncho-pneumonies; il a encore présenté deux entéocolites sévères dont l'une accompagnée de polyarthrite, ainsi qu'un état fébrile récidivant avec polyadénopathies.

Le diagnostic d'agammaglobulinémie primaire à manifestation tardive a été posé quand le malade avait 36 ans et a été suivi d'un traitement bi-mensuel de gammaglobulines i.v.

Ses immunoglobulines sériques sont très abaissées, alors que son immunité cellulaire est normale.

Cas No 5 (M.J.L., 1947) : Ce patient a aussi souffert de nombreux épisodes infectieux avant que le diagnostic de dysgammaglobulinémie ait été posé en 1971. Il a constamment présenté des infections des voies aériennes supérieures avec bronchiectasies secondaires, et des troubles digestifs consistant surtout en diarrhées. Il a également été atteint une fois d'une furonculose et d'un abcès péréal.

Dans son sérum, on constate une forte diminution des IgG, une absence d'IgA (retrouvée au niveau des muqueuses digestives par examen en immunofluorescence directe d'une biopsie duodénale), alors que les IgM sont normales. L'immunité cellulaire de ce sujet est aussi altérée. Il reçoit un traitement régulier de gammaglobulines.

Par la suite, ce sujet verra se développer des adénopathies cervicales dont l'examen histologique conduira à poser le diagnostic de **maladie de Hodgkin**.

Cas No 6 (O.M., 1929) : C'est dès 5 ans que ce patient a présenté des infections

ORL et pulmonaires à répétition, mais le diagnostic d'agammaglobulinémie n'a été posé chez lui qu'à l'âge de 32 ans. Comme il a un frère jumeau homozygote tout à fait sain, force a été de classer sa maladie dans les agammaglobulinémies acquises. Ce malade a bénéficié en 1966 d'une greffe de moëlle osseuse de son frère jumeau qui l'a protégé des infections pendant 5 ans et lui a permis de rejeter des greffes de peau homologues qu'il tolérait auparavant (Cruchaud et coll, 1968). Mais il a recommencé à souffrir de pneumonies dans la période où il a été testé, ce qui a nécessité la reprise d'un traitement de gamma-globulines i.m.

Ses immunoglobulines sériques sont fortement diminuées (comme elles l'ont toujours été, même après la greffe); son immunité cellulaire, connue pour être déficiente avant la greffe, est aussi diminuée au moment du test.

Résultats.

Les patients No 1 et 2 (agammaglobulinémie liée au sexe avec immunité cellulaire considérée comme normale) montrent une baisse plus ou moins importante du pourcentage des lymphocytes porteurs de chaînes lourdes avec une diminution moins marquée de ceux portant des chaînes légères.

Les sujets No 3 et 4 (agammaglobulinémie primaire de manifestation tardive avec immunité cellulaire variable) présentent un nombre abaissé de lymphocytes porteurs d'immunoglobulines avec un excès relatif de chaînes légères par rapport aux chaînes lourdes.

Le patient No 5 possédant une faible quantité d'IgG avec une absence d'IgA et des IgM normales et dont l'immunité cellulaire est déprimée a, par contre, un nombre tout à fait normal de lymphocytes porteurs d'immunoglobulines et, en particulier, de lymphocytes positifs pour les IgA.

Le patient No 6 (agammaglobulinémie acquise avec immunité cellulaire fortement altérée) montre, à l'inverse de tous les sujets étudiés dans ce groupe, une quantité plus faible de chaînes légères que de chaînes lourdes à la surface de ses lymphocytes.

Il faut ajouter que la quasi absence de lymphocytes porteurs d'immunoglobulines observée dans les cas No 2 et 3 est obtenue après soustraction d'un contrôle anormalement élevé. Chez ces patients, respectivement 30 % et 20 % de lymphocytes sont positifs avec chacun des antisérums, ainsi qu'avec le sérum de lapin normal. En fait, les cellules fluorescentes sont généralement plus

grandes que des lymphocytes et, selon des expériences actuellement en cours, il semble s'agir de monocytes. Il est d'ailleurs connu que l'on peut trouver une monocytose périphérique chez les patients souffrant d'agammaglobulinémie (Cooper, communication personnelle).

C. Sarcoïdose

Les patients étudiés ici présentent des formes subaiguës, ganglionnaires et pulmonaires surtout, de sarcoïdose, dûment documentées mais sans répercussion clinique et, par conséquent, ne nécessitant pas de traitement.

Trois sujets (No 2, 3 et 6) possèdent un nombre normal d'immunoglobulines lymphocytaires, qu'il s'agisse de chaînes lourdes ou de chaînes légères. Chez un patient (No 1), nous trouvons un nombre normal de lymphocytes positifs pour les chaînes lourdes, mais une baisse des lymphocytes positifs pour les chaînes légères. Quatre sujets (No 4, 5, 7 et 8) ont une diminution des deux types de chaînes.

Dans 7 cas sur 8, le nombre des cellules sur lesquelles on détecte des chaînes lourdes est plus grand que celui des cellules sur lesquelles on trouve des chaînes légères; le cas restant n'a aucune cellule porteuse d'immunoglobulines, ce résultat ayant été obtenu - comme chez les deux patients du groupe précédent - après soustraction d'un contrôle de 24 % dû à la présence de cellules identifiées à nouveau comme étant des monocytes.

Tous les sujets sauf un ont une immunité cellulaire diminuée de façon modérée à sévère.

Comme observé précédemment, il n'y a pas de relation entre le pourcentage des lymphocytes porteurs d'immunoglobulines et le taux sérique de celles-ci. Les chaînes μ et λ semblent significativement moins fréquentes ici que les autres chaînes.

D. Status après thymectomie

L'étude de ces patients était destinée à voir si la thymectomie peut modifier la proportion des lymphocytes T et B dans le sang périphérique.

Ils ont tous été testés environ 2 ans après l'intervention. L'indication à la thymectomie n'a pas été la même pour tous. Les patients No 1 et 2 ont subi l'ablation du thymus comme traitement d'une myasthénie grave. La malade No 3 a été thymectomisée en raison de la suspicion d'un thymome; elle a

développé une myasthénie grave plusieurs années après l'intervention. La patiente No 4, qui souffrait d'une tumeur des parathyroïdes, a subi l'exérèse du thymus en même temps que celle des parathyroïdes. La dernière malade (No 5) est un enfant auquel on a enlevé le thymus à l'âge de 2 ans, après avoir posé le diagnostic de thymome; à l'examen histologique, il s'agissait en fait d'une hyperplasie thymique.

Dans 3 cas (No 1, 2 et 4), nous remarquons un nombre diminué de chaînes lourdes, deux d'entre eux (No 1 et 2) ayant aussi une baisse des chaînes légères à la surface de leurs lymphocytes. Les cas No 3 et 5 montrent un nombre normal de lymphocytes porteurs d'immunoglobulines, pour les chaînes lourdes comme pour les chaînes légères. Le rapport entre chaînes légères et chaînes lourdes est en faveur des chaînes lourdes dans 4 cas. Le cinquième sujet présente une inversion du rapport κ/λ , ce que l'on observe également chez 2 sujets normaux (voir Table I, cas No 1 et 6).

L'immunité cellulaire n'est déprimée que dans un cas (No 3).

E. Aplasie médullaire

La seule malade étudiée ici souffrait d'une aplasie médullaire secondaire à un traitement de chloramphénicol. Nous nous sommes intéressés, avec ce cas, aux conséquences que l'absence de fonction médullaire pouvait avoir sur la répartition des lymphocytes T et B périphériques.

Lors de l'hospitalisation, en février 1972, elle présentait le tableau hématologique suivant : Hb 6,4 g %, réticulocytes 8 ‰, leucocytes 2050/mm³ dont 83 % de lymphocytes et 6 % de monocytes, plaquettes 10.000/mm³. La moëlle osseuse était désertique, avec une absence particulièrement marquée de cellules myéloïdes et de mégacaryocytes. Les immunoglobulines sériques étaient en quantité normale à l'immunoélectrophorèse. L'immunité cellulaire paraissait intacte à la stimulation lymphocytaire par la PHA et en culture mixte. Cette patiente a montré une absence de lymphocytes avec chaînes lourdes, mais un nombre normal de lymphocytes avec chaînes légères.

Elle a reçu une greffe de moëlle en mars 1972 obtenue d'un frère ne possédant que deux Ag HL-A identiques aux siens. Ses lymphocytes furent à nouveau testés 5 mois après la greffe. Nous avons pu détecter cette fois des chaînes lourdes sur ses lymphocytes, quoique en nombre réduit; les lymphocytes avec chaînes légères avaient diminué par rapport à ce qu'ils étaient avant la

greffe, mais se situaient encore dans les limites normales. La stimulation lymphocytaire à la PHA et aux trois autres Ag était très diminuée, alors qu'elle était à la limite inférieure de la normale en culture mixte. La patiente était encore très thrombopénique. On n'a pas retrouvé de cellule appartenant au donneur dans son sang, ce qui n'a pas permis d'objectiver la "prise" de la greffe.

Reproductibilité des résultats

Trois des patients présentant un syndrome de déficit immunologique de type humoral (Table II, cas No 2, 3 et 6) ont été analysés une deuxième fois au cours d'une période de 4 à 5 mois, et un nouveau-né de sexe masculin, non inclus dans ce travail, a été testé à deux reprises dans un intervalle de 3 jours. Sur les 20 résultats ainsi obtenus, 19 ont montré une excellent reproductibilité; une seule valeur s'est révélée très différente de la première obtenue.

DISCUSSION

Les résultats que nous avons obtenus sont comparables à ceux de certains auteurs (Papamichael et coll., 1971; Cooper et coll., 1971; Grey et coll., 1971) qui, utilisant la fluorescence directe trouvent aussi chez l'homme 30 % de lymphocytes fluorescents dans le sang avec une prédominance des porteurs d'IgG. Il est d'ailleurs intéressant de savoir que Jondal et coll. (1972), au moyen d'une méthode différente, constatent qu'environ 30 % des lymphocytes humains périphériques possèdent à la fois des immunoglobulines de surface et des sites récepteurs de complément, mais sont incapables de former des rosettes naturelles, trois caractéristiques qui les désignent comme des cellules thymo-indépendantes, c'est-à-dire des lymphocytes B.

Par contre, d'autres auteurs qui appliquent aussi la fluorescence directe (Coombs et coll., 1969; Fröland et Natvig, 1972 a; Siegal et coll., 1971; Preud'homme et Seligmann, 1972 a; Aisenberg et Bloch, 1972) obtiennent un nombre total de lymphocytes fluorescent inférieur à 30 % (entre 7 et 21,5 %) avec, par ailleurs, une prédominance d'IgM.

Ces discordances n'ont pas trouvé d'explication pour le moment.

Il existe peu d'études faisant état de la recherche de chaînes légères sur les lymphocytes humains en utilisant la technique d'immunofluorescence (Coombs et coll., 1969; Grey et coll., 1971; Siegal et coll., 1971; Aisenberg et Bloch, 1972; Piessens et coll., 1973); dans la plupart des cas, la proportion des lymphocytes porteurs de chaînes légères a été trouvée égale ou inférieure à celle des lymphocytes porteurs de chaînes lourdes. Dans notre travail, au contraire, 9 des 13 sujets normaux ont montré plus de chaînes légères que de chaînes lourdes à la surface de leurs lymphocytes; et, en moyenne, les chaînes légères sont un peu plus fréquentes que les chaînes lourdes. Cet excès peut être dû à des lymphocytes portant des IgD et des IgE (qui n'ont pas été recherchées ici) puisqu'il n'y a pas de relation entre la quantité d'immunoglobuline sérique et le pourcentage de lymphocytes qui en sont couverts et que, d'après Aisenberg et Bloch (1972), van Boxel et coll. (1972) et Piessens et coll. (1973), on pourrait observer jusqu'à 6 % de lymphocytes périphériques porteurs d'IgD et d'IgE. Une autre possibilité est que notre méthode, grâce à la sensibilité de l'immunofluorescence indirecte, nous permet de détecter des cellules sur lesquelles seules les chaînes légères sont visibles. Ces cellules appartiendraient à la population des lymphocytes T puisque, bien que les immunoglobulines de surface soient considérées comme la caractéristique des lymphocytes B, plusieurs études suggèrent que les cellules T possèdent néanmoins des immunoglobulines membranaires dont les chaînes légères seraient plus facilement détectées que les chaînes lourdes (Greaves et coll., 1969; Greaves, 1970; Mason et Warner, 1970; Lesley et coll., 1971; Bankhurst et Warner, 1971; Nossal et coll., 1972; Marchalonis et coll., 1972; Hogg et Greaves, 1972).

L'étude des syndromes entraînés par une altération définie de l'appareil immunologique (déficit humoral ou cellulaire) fournit quelques éléments nécessaires à la discussion de cette deuxième hypothèse.

Dans le groupe des déficits humoraux, les 5 patients porteurs d'une agammaglobulinémie primaire, soit liée au sexe, soit d'apparition tardive, présentent une forte diminution des cellules porteuses d'immunoglobulines, ainsi que cela a déjà été rapporté dans la littérature (Cooper et coll., 1971; Siegal et coll., 1971; Grey et coll., 1971); toutefois cette diminution est plus marquée pour les chaînes lourdes que pour les légères. Il faut d'ailleurs remarquer qu'à l'instar des auteurs mentionnés, nous pouvons aussi distinguer deux types de déficits humoraux: l'un avec absence d'immunoglobulines lymphocytaires et d'immunoglobulines sériques

(agammaglobulinémie liée au sexe et agammaglobulinémie d'apparition tardive), l'autre avec présence d'immunoglobulines lymphocytaires et absence d'immunoglobulines sériques (représenté ici par le cas de dysgammaglobulinémie qui possède des IgA sur ses lymphocytes mais pas dans son sérum et par celui d'agammaglobulinémie acquise qui montre une plus grande baisse des immunoglobulines sériques que des immunoglobulines lymphocytaires). Ce deuxième type de déficit humoral est interprété comme un arrêt de maturation entre le stade de lymphocytes et celui de plasmocytes (Cooper et Lawton, 1972), la cellule portant des immunoglobulines à sa surface étant considérée comme un précurseur des cellules qui libèrent ces mêmes immunoglobulines dans le sang; les études sur la dynamique des immunoglobulines membranaires confirment cette idée (Pernis et coll., 1971; Ioor et coll., 1972; Raff et de Petris, 1973), de même que les travaux de Fröland et Natvig (1972 b) concernant les immunoglobulines lymphocytaires chez le nouveau-né.

Les cas présentant une atteinte de l'immunité cellulaire (sarcoïdoses, thymectomies) auraient dû montrer, selon nos prévisions, une augmentation relative ou même absolue des lymphocytes B traduite par une augmentation du pourcentage des lymphocytes à chaînes lourdes, comme cela a été observé dans la sarcoïdose par Holborow (1972). La constatation inverse d'un nombre normal, et même parfois diminué, de lymphocytes B en cas d'altération de l'immunité cellulaire peut s'expliquer de trois façons :

1/ Toutes les cellules B ne sont pas porteuses d'immunoglobulines de surface, comme cela a été décrit chez la souris par Lamelin et coll. (1972).

2/ Toutes les cellules B possèdent des immunoglobulines de surface mais, chez un certain nombre d'entre elles, ces immunoglobulines sont comme cachées dans la membrane, et donc inaccessibles aux antisérums destinées à les mettre en évidence.

3/ Il existerait une troisième population de lymphocytes qui ne pourraient pas être caractérisés comme B ou T par les critères actuels (Stobo et coll., 1973; Greenberg et coll., 1973).

CONCLUSION

On doit déjà à l'étude des immunoglobulines de surface lymphocytaires une meilleure compréhension des réactions de l'organisme à la pénétration d'un Ag, une classification pathogénique des syndromes de manque d'anticorps et le

début d'une répartition nouvelle des syndromes lympho-prolifératifs. Il est certain que la poursuite de ces recherches et leur application à d'autres domaines encore pourront apporter des éléments utiles à la connaissance de certains phénomènes vitaux et de leurs dérèglements.

* * * * *

Liste des abréviations.

Ac	anticorps
Ag	antigène
BSA	albumine bovine sérique
CF	facteur chimiotactique
DNA	acide désoryribonucléique
FCS	sérum de veau foetal
IEP	immunoélectrophorèse
Ig	immunoglobuline
MF	facteur mitogénique
MIF	facteur inhibant la migration des macrophages
LTF	facteur lymphocytotoxique
PBS	solution physiologique tamponnée
PHA	phytohémagglutinine
PPD	tuberculine purifiée

BIBLIOGRAPHIE

- Aisenberg A.C. et Bloch K.J. Immunoglobulins on the surface of neoplastic lymphocytes. *New Engl.J.Med.* 6, 272, 1972.
- Bankhurst A.D., Warner N.L. et Sprent J. Surface immunoglobulins on thymus and thymus derived lymphoid cells. *J.exp.Med.* 134, 1005, 1971.
- Basten A., Sprent J. et Miller J.F.A.P. Receptor for antibody-antigen complexes used to separate T cells from B cells. *Nature New Biol.* 235, 178, 1972.
- Bert G., Massaro A.L., Lajolo Di Cossano D. et Maja M. Electrophoretic study of immunoglobulins and immunoglobulin subunits on the surface of human peripheral blood lymphocytes. *Immunology* 17, 1, 1969.
- Boxel J.A. van, Paul W.E., Terry W.D. et Green I. IgD-bearing human lymphocytes. *J.Immunol.* 109, 648, 1972.
- Boxel J.A. van, Hardis J.A., Green I. et Paul W.E. Multiple heavy chain determinants on individual B-lymphocytes in the peripheral blood of patients with Sjögren syndrome. *NewEngl.J.Med.* 289, 823, 1973.
- Böyum A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Isolation of mononuclear cells by one centrifugation and of granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1 g. *Scand.J.clin.lab.Invest.* 21, suppl. 97, 77, 1968.
- Coombs R.A.A., Feinstein A. et Wilson A.B. Immunoglobulin determinants on the surface of human lymphocytes. *Lancet* ii, 1157, 1969.
- Cooper M.D., Peterson R.D. et Good R.A. Delineation of the thymic and bursal lymphoid systems in the chicken. *Nature* 205, 143, 1965.
- Cooper, M.D., Lawton A.R. et Bockman D.E. Agammaglobulinaemia with B-lymphocytes. Specific defect of plasma-cell differentiation, *Lancet* ii, 791, 1971.
- Cooper M.D. et Lawton A.R. Circulating "B" cells in patients with immunodeficiency. *Am.J.Pathol.* 69, 513, 1972.
- Cruchaud, A. Laperrouza C. et Mégevand R. Agammaglobulinemia in monozygous twins. Therapeutical prospects. *Immunological Deficiency Disease in Man*. Ed. par R.A. Good. The National Foundation Press, New-York, p. 315, 1968.

- Fröland S.S. et Natvig J.B. Surface-bound immunoglobulin on lymphocytes from normal and immunodeficient humans. *Scand.J.Immunol.* 1, 1, 1972 a)
- Fröland S.S. et Natvig J.B. Lymphocytes with membrane-bound immunoglobulins (B-lymphocytes) in new-born babies. *Clin.exp.Immunol.* 11, 495, 1972 b)
- Gajl-Peczalska K.J., Park B., Biggar W.D. et Good R.A. B- and T-lymphocytes in immunodeficiency in man. *J.clin.Invest.* 52, 919, 1973.
- Girard J.P. Antibody synthesis in vitro by human peripheral blood lymphocytes. *Int.Arch.Allergy* 32, 294, 1967.
- Glick B., Chang T.S. et Jaap R.G. The bursa of Fabricius and antibody production. *Poult.Sci.* 35, 224, 1956.
- Goldschneider I. et Cogen R.B. Immunoglobulin molecules on the surface of activated T-lymphocytes in the rat. *J.exp.Med.* 138, 163, 1973.
- Greaves M.F., Torrigiani G. et Roitt I.M. Blocking of the lymphocyte receptor site for cell-mediated hypersensitivity and transplantation reactions by anti-light chain sera. *Nature* 222, 885, 1969.
- Greaves M.F. Biological effects of anti-immunoglobulins : evidence for immunoglobulin receptors on T- and B-lymphocytes. *Transplant.Rev.* 5, 45, 1970.
- Greenberg A.H., Hudson L. et Shen L. Antibody dependent cell-mediated cytotoxicity due to a "nude" lymphoid cell. *Nature New Biol.* 242, 111, 1973.
- Grey H.M., Rabellino E. et Pirofsky B. Immunoglobulins on the surface of lymphocytes. IV. Distribution in hypogammaglobulinemia, cellular immune deficiency and chronic lymphatic leukemia. *J.clin.Invest.* 50, 2368, 1971.
- Hämmerling V., et Rajewsky K. Evidence for surface-associated immunoglobulins on T- and B-lymphocytes. *Eur.J.Immunol.* 1, 447, 1971.
- Hermans P.E., Huizenga K.A., Hofman H.N.II, Brown A.L. et Markowitz H. Dysgammaglobulinemia associated with nodular lymphoid hyperplasia of the small intestine. *Am.J.Med.* 40, 78, 1966.
- Hirschhorn K. Schreibmann R.R., Bach F.H. et Silzbach L.E. In vitro studies of lymphocytes from patients with sarcoidosis and lymphoproliferative diseases. *Lancet* ii, 843, 1964.

Holborow E.J. Observations on lymphocytes bearing surface immunoglobulins in health and disease. Collegium Internationale Allergologicum, IXth Symposium, London, 12th-15th September 1972.

Hoog N.M. et Greaves M.F. Antigen-binding thymus-derived lymphocytes. II. Nature of the immunoglobulin determinants. *Immunology* 22, 967, 1972.

Jondal M., Holm G. et Wigzell H. Surface markers on human T- and B-lymphocytes. I. A large population of lymphocytes forming non immune rosettes with sheep red blood cells. *J.exp.Med.* 136, 207, 1972.

Kincade P.W., Lawton A.R. et Cooper M.D. Restriction of surface immunoglobulins determinants to lymphocytes of the plasma cell line. *J.Immunol.* 106, 1421, 1971.

Lamelin, J.P., Lisowska-Bernstein B., Matter A., Ryser J.E. et Vassalli P. Horse thymus-independent and thymus-derived lymphoid cells. I. Immuno-fluorescent and functional studies. *J.exp.Med.* 136, 984, 1972.

Lesley J.R. et Dutton R.W. Antigen receptor molecules : inhibition by antiserum against H light chains. *Science* 169, 487, 1970.

Lesley J.F., Kettman J.R. et Dutton R.W. Immunoglobulins on the surface of thymus-derived cells engaged in the initiation of a humoral immune response. *J.exp.Med.* 134, 618, 1971.

Loor F., Forni L. et Pernis B. The dynamic state of the lymphocyte membrane. Factors affecting the distribution and turn-over of surface immunoglobulins. *Eur.J.Immunol.* 2, 203, 1972.

Mancini G., Carbonara A.O. et Heremans J.F. Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. *Immunochemistry* 2, 235, 1965.

Marchalonis J.J., Cone R.E. et Atwell J.L. Isolation and partial characterization of lymphocyte surface immunoglobulins. *J.exp.Med.* 135, 956, 1972.

Mason S. et Warner N.L. The immunoglobulin nature of the antigen recognition site on cells mediating transplantation immunity and delayed hypersensitivity. *J.Immunol.* 104, 762, 1970.

Mitchison N.A. Antigen recognition responsible for the induction in vitro of the secondary response. Cold Spring Harbor Symp.Quant.Biol. 32, 431, 1967.

Nicod I., Girard J.P. et Cruchaud A. Membrane-associated immunoglobulins of human lymphocytes in immunologic disorders. *Clin.exp.Immunol.* 15, 365, 1973.

- Nossal G.J.V., Warner N.L., Lewis H. et Sprent J. Quantitative features of a sandwich radioimmunolabelling technique for lymphocyte surface receptors. *J.exp.Med.* 135, 405, 1972.
- Papamichael M., Brown J.C. et Holborow E.J. Immunoglobulins on the surface of human lymphocytes. *Lancet* ii, 850, 1971.
- Paraskevas F., Lee S.T. et Israels L.G. Cell surface associated gammaglobulins in lymphocytes. I. Reverse immune cytoadherence : a technique for their detection in mouse and human lymphocytes. *J.Immunol.* 106, 160, 1971.
- Perkins W.D., Karnovsky M.J. et Unanue E.R. An ultrastructural study of lymphocytes with surface-bound immunoglobulins. *J.exp.Med.* 135, 267, 1972.
- Pernis B., Forni L. et Amante L. Immunoglobulin spots on the surface of rabbit lymphocytes. *J.exp.Med.* 132, 1001, 1970.
- Pernis B., Ferrarini M., Forni L. et Amante L. Immunoglobulins on lymphocyte membranes. *Progress In Immunology*. Ed. par B. Amos. Academic Press, New-York, p. 95, 1971.
- Petris S. et Raff M.C. Normal distribution, patching and capping of lymphocyte surface immunoglobulin studied by electron microscopy. *Nature New Biol.* 241, 257, 1973.
- Preud'homme J.L., Klein M., Verroust P. et Seligmann M. Immunoglobulines monoclonales de membrane dans les leucémies lymphoïdes chroniques. *Rev.eur.Et.clin.biol.* 16, 1025, 1971.
- Preud'homme J.L. et Seligmann M. Primary immunodeficiency with increased numbers of circulating B-lymphocytes contrasting with hypogammaglobulinaemia. *Lancet* i, 442, 1972 a)
- Preud'homme J.L. et Seligmann M. Immunoglobulins on the surface of lymphoid cells in Waldenström's macroglobulinemia. *J.clin.Invest.* 51, 701, 1972 b)
- Piessens W.F., Schur P.H., Moloney C. et Churchill W.H. Lymphocyte surface immunoglobulins in lymphoproliferative diseases. *New Engl.J.Med.* 288, 176, 1973.
- Raff M.C., Sternberg M. et Taylor R.B. Immunoglobulin determinants on the surface of mouse lymphoid cells. *Nature* 225, 553, 1970.

- Raff M.C. et de Petris S. Movements of lymphocyte surface antigens and receptors : the fluid nature of the lymphocyte plasma membrane and its immunological significance. *Fed.Proc.* 32, 48, 1973.
- Sell S. et Gell P.G.H. Studies on rabbit lymphocytes in vitro. I. Stimulation of blast transformation with anti-allotype serum. *J.exp.Med.* 122, 423, 1965.
- Siegal F.P., Pernis B. et Kunkel H.G. Lymphocytes in human immunodeficiency states : a study of membrane associated immunoglobulins. *Eur.J.Immunol.* 1, 482, 1971.
- Stobo J.D., Rosenthal A.S. et Paul W.E. Functional heterogeneity of murine lymphoid cells. V. Lymphocytes lacking detectable surface θ or immunoglobulin determinants. *J.exp.Med.* 138, 71, 1973.
- Uhr J.W. Passive sensitization of lymphocytes and macrophages by antigen-antibody complexes. *Proc.Nat.Acad.Sci.* 54, 1599, 1965.
- Unanue E.R., Grey H.M., Rabellino E., Campbell P. et Schmidtke J. Immunoglobulins on the surface of lymphocytes. II. The bone marrow as the main source of lymphocytes with detectable surface-bound immunoglobulins. *J.exp.Med.* 133, 1188, 1971.
- Unanue E.R., Perkins W.D. et Karnovsky M.J. Ligand-induced movements of lymphocyte membrane macromolecules I. Analysis by immunofluorescence and ultrastructural radioautography. *J.exp.Med.* 136, 885, 1972.
- Warner N.L., Szenberg A. et Burnet F.M. The immunological role of different lymphoid organs in the chicken. I. Dissociation of immunological responsiveness. *Aust.J.exp.Biol.med.Sci.* 40, 373, 1962.
- Warner N.L., Byrt P. et Ada G.L. Blocking of the lymphocyte antigen receptor site with anti-immunoglobulin sera in vitro. *Nature* 226, 942, 1970.
- Wigzell H. Specific fractionation of immunocompetent cells. *Transplant.Rev.* 5, 76, 1970.
- Williams R.L.Jr., Deboard J.R., Mellbye O.J., Messner R.P. et Lindström F.D. Studies of T- and B-lymphocytes in patients with connective tissue diseases. *J.clin.Invest.* 52, 283, 1973.
- Wilson J.D. et Nossal G.J.V. Identification of human T- and B-lymphocytes in normal peripheral blood and in chronic lymphocytic leukaemia. *Lancet* ii, 788, 1971.

Wilson J.D., Nossal G.J.V. et Lewis H. Metabolic characteristics of lymphocyte surface immunoglobulins. *Eur.J.Immunol.* 2, 225, 1972.

Wood B.T., Thompson S.H. et Goldstein G. Fluorescent antibody staining. III. Preparation of fluorescein-isothiocyanate-labelled antibodies. *J.Immunol.* 95, 225, 1965.

Zucker-Franklin D. et Berney S. Electron microscope study of surface immunoglobulin-bearing human tonsil cells. *J.exp.Med.* 135, 533, 1972.

Table I. Sujets normaux

Sujets	Lymphocytes porteurs d'Ig							I/H	Ig sériques		
	chaînes H				chaînes L				IgG	IgA	IgM
	J	α	μ %	Total	κ	λ %	Total				
1. B.M., 1920	17	5	6	28	8	9	17	17/28	NP*		
2. J.M., 1938	14	6	8	28	26	10	36	36/28	294	1255	95
3. X.Y., 1920	15	7	7	29	28	10	38	38/29	NP		
4. de M.C.L., 1929	16	5	7	28	19	17	36	36/28	210	1150	45
5. T.G., 1923	18	7	8	33	15	9	24	24/33	338	1460	82
6. B.R., 1931	12	9	9	30	10	16	26	26/30	173	1140	47
7. C.R., 1946	19	14	12	45	24	14	38	38/45	327	1080	83
8. B.A.M., 1922	19	6	10	35	29	12	41	41/35	154	1160	95
9. A.S., 1930	12	5	8	25	23	8	31	31/25	308	1180	135
10. G.A., 1928	13	4	6	23	21	11	32	32/23	215	910	95
11. C.A., 1928	14	8	6	28	24	11	35	35/28	273	1230	50
12. G.J., 1918	13	6	12	31	19	16	35	35/31	251	1875	100
13. P.S., 1945	17	12	8	37	20	19	39	39/37	241	1740	85
Moyenne	15,3	7,2	8,2	30,7	20,4	12,4	32,8	32,8/30,7	253	1289	83
Moyenne $\pm$ 2 DS de 50 contrôles									195 $\pm$ 135	1230 $\pm$ 395	126 $\pm$ 100

* NF = non fait

Table II. Syndromes de déficits immunologiques

Sujets	Lymphocytes porteurs d'Ig						L/H	Ig sériques			Immunité cellulaire
	Chaînes H			Chaînes L				IgG	IgA	IgM	
	δ	α	μ	Total %	κ	λ	Total %				
								mg/100 ml			
1. W.D., 1948 Agammaglobulinémie liée au sexe	5	2	1	8	7	3	10	26	6	0	N
2. K.M., 1968 Agammaglobulinémie liée au sexe	0	0	0	0	7	3	10	132	0	0	N ou
3. R.R., 1917 Agammaglobulinémie primaire d'apparition tardive	1	0	0	1	6	0	6	51	0	0	
4. L.J.F., 1922 Agammaglobulinémie primaire d'apparition tardive	5	3	2	10	15	3	18	260	0	0	N
5. M.J.L., 1947 Dysgammaglobulinémie	17	7	10	34	25	15	40	107	0	76	
6. O.M., 1929 Agammaglobulinémie acquise Greffe de moëlle isologue	10	3	2	15	7	2	9	108	8	0	

Table III. Sarcoidoses

Sujets	Lymphocytes porteurs d'Ig							L/H	Ig sériques			Immunité cellulaire
	Chaînes H				Chaînes L				IgG	IgA	IgM	
	δ	α	μ	Total %	κ	λ	Total %					
mg/100 ml												
1. G.C., 1943	17	10	9	36	9	6	15	15/36	1410	342	135	↗
2. R.M., 1936	12	8	5	25	16	5	21	21/25	1400	147	40	↗↗
3. B.L., 1919	15	11	7	33	14	9	23	23/33		NF*		↗
4. K.F., 1938	0	0	0	0	0	0	0	0/0	2080	345	152	↗↗
5. B.F., 1939	13	3	5	21	10	4	14	14/21	1115	168	125	↗
6. M.A., 1936	27	5	10	42	15	8	23	23/42	805	153	40	N
7. Z.H., 1934	12	0	3	15	12	1	13	13/15	1070	375	200	↗
8. P.L., 1915	7	4	0	11	2	3	5	5/11	1100	415	105	↗↗

* NF = non fait

Table IV. Status post-thymectomie

Sujets	Lymphocytes porteurs d'Ig							L/H	Ig sériques			Immunité cellulaire
	Chaines H				Chaines L				IgG	IgA	IgM	
	Total				Total							
	δ	α	μ	%	κ	λ	%		mg/100 ml			
1. F.A., 1916	10	3	2	15	9	4	13	13/15	1450	156	186	NF*
2. B.G., 1945	4	9	5	18	10	5	15	15/18	1450	210	135	N
3. B.Y., 1917	17	5	6	28	13	12	25	25/28	1450	247	160	N
4. T.O., 1931	10	3	6	19	13	8	21	21/19		NF*		N
5. L.C., 1968	16	6	4	26	7	15	22	22/26	990	83	53	N

* NF = non fait

Table V. Aplasie médullaire

	Lymphocytes porteurs d'Ig				L/H	Ig sériques			Immunité cellulaire
	Chaînes H		Chaînes L			IgG	IgA	IgM	
	δ	α	μ	λ					
	Total %		Total %			mg/100 ml			
S.D., 1934									
a) avant greffe de moelle	0	0	0	0	37	5	42	normales à l'IEP	N
b) 1 mois après greffe de moelle	4	9	3	16	7	4	11	NF*	NF*
c) 5 mois après greffe de moelle	10	6	4	20	14	10	24	900 147 185	

* NF = non fait

